

**Process for the preparation of immunoglobulin preparations with reduced complement activity**

Patent Number: DE3430320  
Publication date: 1985-03-28  
Inventor(s): SHIBATA YASUO (JP); SUEHIRO TAKESHI (JP)  
Applicant(s): NIHON SEIYAKU CO (JP)  
Requested Patent: ☐ DE3430320  
Application Number: DE19843430320 19840817  
Priority Number(s): JP19830149688 19830818  
IPC Classification: A61K39/395  
EC Classification: C07K16/06A  
Equivalents: JP1871355C, JP5082367B, ☐ JP60042336

**Abstract**

Crude immunoglobulin, e.g. immunoglobulin paste of Cohn fraction II or II + III, is dissolved in a solution which contains 0.5 to 2.0% (weight/volume) aminoacetic acid until the protein concentration is 3.0 to 5.0% (weight/volume) and is adjusted to a pH of 6.0 to 7.0. Polyethylene glycol 4000 is then added to the solution until the concentration is 6.0 to 7.0% (weight/volume). The resulting precipitate of aggregated immunoglobulins and contaminating proteins is separated off. The supernatant is then adjusted to a pH of 7.0 to 8.0 and adjusted with polyethylene glycol 4000 to a concentration of 10.0 to 15.0% (weight/volume). A precipitate of highly pure immunoglobulin with low anticomplementary activity is obtained. The resulting immunoglobulin can also be treated further to reduce its anticomplementary activity or its content of polyethylene glycol even further.

Data supplied from the **esp@cenet** database - I2

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑪ **DE 3430320 A1**

Int. Cl. 3:  
**A61K 39/395**

(21) Aktenzeichen: P 34 30 320.0  
 (22) Anmeldetag: 17. 8. 84  
 (43) Offenlegungstag: 28. 3. 85

**DE 3430320 A1**

(30) Unionsprioritāt: (32) (33) (31)  
 18.08.83 JP P58-149688

⑦1 Anmelder:  
Nihon Seiyaku Co., Ltd., Tokio/Tokyo, JP

74. Vertreter:  
Vossius, V., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Vossius, D.,  
Dipl.-Chem.; Tauchner, P., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;  
Heunemann, D., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Rauh, P.,  
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 8000 München

(72) Erfinder:  
Shibata, Yasuo, Yokohama, Kanagawa, JP; Suehiro,  
Takeshi, Chiba, JP

100-443887-1

⑤4 Verfahren zur Herstellung von Immunglobulin-Präparaten mit verminderter Komplementaktivität

Beschrieben ist ein Verfahren zur Herstellung von Immunglobulin-Präparaten mit verminderter Komplementaktivität. Rohes Immunglobulin, z. B. Immunglobulinpaste der Cohn-Fraktion II oder II + III, wird in einer 0,5 bis 2,0% (Gew./Vol.) Aminoessigsäure enthaltenden Lösung bis zu einer Proteinkonzentration von 3,0 bis 5,0% (Gew./Vol.) gelöst und auf einen pH-Wert von 6,0 bis 7,0 eingestellt. Sodann wird die Lösung mit Polyäthylenglykol 4000 bis zu einer Konzentration von 6,0 bis 7,0% (Gew./Vol.) versetzt. Die entstandene Fällung aus aggregierten Immunglobulinen und verunreinigenden Proteinen wird abgetrennt. Danach wird der Überstand auf einen pH-Wert von 7,0 bis 8,0 eingestellt und mit Polyäthylenglykol 4000 auf eine Konzentration von 10,0 bis 15,0% (Gew./Vol.) eingestellt. Es wird eine Fällung von hochreinem Immunglobulin mit niedriger antikomplementärer Aktivität erhalten. Das erhaltene Immunglobulin kann noch weiter behandelt werden, um seine antikomplementäre Aktivität bzw. seinen Gehalt an Polyäthylenglykol noch weiter zu vermindern.

VOSSIUS · VOSSIUS · TAUCHNER · HEUNEMANN · RAUH  
PATENTANWÄLTE  
EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

3430320

1  
5 u.Z.: T 209  
Case: 8672

NIHON SEIYAKU CO., LTD.  
Tokyo, Japan

10  
" Verfahren zur Herstellung von Immunglobulin-Präparaten mit  
verminderter Komplementaktivität "

15  
Priorität: 18.8.1983, Japan, Nr. 149 688/83

P a t e n t a n s p r ü c h e

20  
1. Verfahren zur Herstellung von Immunglobulin-Präparaten  
mit verminderter Komplementaktivität, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , daß man eine Lösung von rohem  
Immunglobulin mit einer Proteinkonzentration von 3,0 bis 5,0 %  
25 (Gew./Vol.), einer Amminoessigsäurekonzentration von 0,5 bis  
2,0 % (Gew./Vol.) und einem pH-Wert von 6,0 bis 7,0 mit Poly-  
äthylenglykol 4000 bis zu einer Konzentration von 6,0 bis  
7,0 % (Gew./Vol.) versetzt, die entstandene Fällung von aggre-  
giertem Immunglobulin abtrennt, den Überstand auf einen pH-  
30 Wert von 7,0 bis 8,0 einstellt und mit Polyäthylenglykol 4000  
bis zu einer Konzentration von 10,0 bis 15,0 % (Gew./Vol.)  
versetzt und die erhaltene Fällung von hochreinem Immun-  
globulin isoliert.

35  
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß  
man zur weiteren Verminderung der Komplementaktivität die  
erhaltene Fällung von hochreinem Immunglobulin in einem  
Lösungsmittel

- 2 -

3430320

- 1 löst und die Lösung durch eine mit einem Anionenaustauscher gefüllte Säule leitet.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,  
5 daß man zur Herabsetzung der Polyäthylenglykol-Konzentration die Lösung des hochreinen Immunglobulins bei niedriger Temperatur mit Äthanol versetzt und die erhaltene Fällung isoliert.
- 10 4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Lösung des erhaltenen hochreinen Immunglobulins auf einen pH-Wert von 5,0 bis 6,0 einstellt, die Lösung mit einem Kationenaustauscher behandelt, den Kationenaustauscher zur Abtrennung von Polyäthylenglykol wäscht  
15 und das adsorbierte, hochreine Immunglobulin mit einer Lösung mit hoher Salzkonzentration eluiert.

- 3 -

3430320

1

- 5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Immunglobulin-Präparaten mit verminderter Komplementaktivität (antigenunabhängiger Komplementaktivierung) zur intravenösen Anwendung.
- 10 Immunglobulin-Präparate werden durch verschiedene Aufbereitungsverfahren aus dem Serum isoliert, wobei meist Neutralisatze oder Äthanol nach Cohn et al., J. Am. Chem. Soc., Bd. 68 (1946), 459, zur Ausfällung verwendet werden. Ausgangsmaterial ist immer ein Pool aus dem Plasma von mindestens 1000 gesunden, freiwilligen Spendern. Diese sogenannten Standard-Immunglobuline führen bei intravenöser Anwendung
- zu schwerwiegenden Nebenreaktionen. Es sind zahlreiche Verfahren zur Herstellung intravenös applizierbarer Immunglobuline bekannt. Einige Präparate zur intravenösen Anwendung sind bereits auf dem Markt. Beispiels-
- 20 weise wurde Immunglobulin mit Pepsin oder Plasmin behandelt, wobei der Komplement-bindende und Nebenreaktionen verursachende Fc-Teil des Moleküls soweit abgespalten wurde, bis die sogenannte antikomplementäre Aktivität bzw. Komplementaktivität praktisch beseitigt war. Damit ging jedoch die natürliche Halbwertszeit von etwa 3 Wochen verloren. Eine weitere Methode besteht in der chemischen Modifizierung der Disulfid-Bindungen des Immunglobulins z.B. durch Sulfonierung oder reduktive Alkylierung, um die Komplementaktivierung zu
- 25 vermindern.
- 30 Ferner sind Verfahren zur Herstellung von aggregatarmen bzw. aggregatfreien Immunglobulin-Präparaten durch Fraktionierung mittels wasserlöslicher Polymere, insbesondere Polyäthylenglykole, bekannt. So ist beispielsweise in der US-PS 4 124 576 ein Verfahren zur Herstellung von intravenös applizierbarem Gammaglobulin mit niedriger antikomplementärer Aktivität

- 4 -

3430320

1 beschrieben, bei dem die Cohn-Fraktion II mit Wasser niedri-  
ger Ionenstärke, das Albumin und 2 % Polyäthylenglykol (PEG)  
enthält, extrahiert wird. Sodann wird die PEG-Konzentration  
auf 4 % (Gew./Vol.) erhöht, und Verunreinigungen werden abge-  
5 trennt. Sodann wird Äthanol bis zu einer Konzentration von 4  
bis 12 % zugegeben, wobei weitere Verunreinigungen ausgefällt  
werden. Danach wird das Gammaglobulin durch Zugabe von PEG  
bis zu einer Konzentration von 10 bis 12 % (Gew./Vol.) oder  
durch Zugabe von Äthanol bis zu einer Konzentration von 20  
10 bis 30 % (Vol./Vol.) bei einem pH-Wert von 7 bis 8,2 ausge-  
fällt. Das gesamte Verfahren wird bei einer Temperatur von et-  
wa 0 bis -6°C durchgeführt.

15 Aus der JA-AS 12 001/1980 ist ein Verfahren zur Herstellung  
von intravenös applizierbaren Gammaglobulin bekannt, bei  
dem eine 1- bis 30%ige Lösung von Hydroxyäthylstärke mit  
einem pH-Wert von 3,5 bis 8,0, insbesondere 6,5 bis 6,9, mit  
einer Lösung von Gammaglobulin und einer 10%igen PEG-Lösung  
versetzt wird, die entstandene Fällung von aggregiertem Gamma-  
20 globulin abgetrennt und der Überstand mit einer 20%igen PEG-  
Lösung versetzt wird. Ferner sind Verfahren zur Reinigung  
verschiedener Plasmaproteine bekannt (Vox Sang., Bd. 31 (1976),  
141, und Folia Haematologica, Bd. 103 (1976), 938), bei denen  
mit PEG gereinigtes Immunglobulin oder eine Lösung der Cohn-  
25 Fraktion II zur Abtrennung von aggregierten Immunglobulinen  
mit 6 bis 10 % Hydroxyäthylstärke und 0,5 bis 2,5 % Bentonit  
versetzt wird.

30 Aus der JA-OS 47 628/1980 ist ein Verfahren zur Herstellung  
von intravenös applizierbarem Gammaglobulin bekannt, bei  
dem 60 bis 90 g/Liter PEG zu einer Lösung von Immunglobulin  
gegeben werden. Die entstandene Fällung wird abgetrennt und  
die PEG-Konzentration wird auf 70 bis 100 g/Liter eingestellt.  
Es wird das gewünschte Gammaglobulin als Fällung erhalten.

35

Als der JA-AS 38 932/1980 ist ein Verfahren zur Reinigung von

- 5 -

3430320

1 Immunglobulin bekannt, bei dem aggregierte Immunglobuline in Gegenwart von 4 bis 4,8 % eines Polyalkylenglykols mit einem Molekulargewicht von 6000 bei einem pH-Wert von 4 bis 5 abgetrennt werden.

5

Schließlich ist aus der JA-OS 206 625/1982 ein Verfahren zur Herstellung von Immunglobulin G bekannt, das keine antikomplementäre Aktivität besitzt, bei dem eine Lösung der Cohn-Fraktion II mit 1 bis 3 % eines Polyäthylenglykol-Polypropylen-  
10 glykol-Blockcopolymers versetzt und unlösliche Substanzen mittels Aktivkohle als Filtrierhilfe abfiltriert werden.

Erfindungsgemäß wurden die Bedingungen untersucht, bei denen aggregierte Immunglobuline aus einem Immunglobulin-Material, z. B.  
15 der Cohn-Fraktion II, mit PEG 4000 abgetrennt werden. PEG 4000 entspricht Macrogol 4000 des Japanischen Arzneibuches. Dabei wurde folgendes festgestellt: Bei der Abtrennung von aggregierten Immunglobulinen aus rohem Immunglobulin mit PEG 4000 ist die Zusammensetzung und der pH-Wert des Lösungsmittels von entscheidender Bedeutung. Die Gegenwart von Amino-  
20 essigsäure (Glykokoll) ermöglicht die selektive Ausfällung der aggregierten Immunglobuline. Auf diese Weise wird reines Immunglobulin erhalten, das intravenös gegeben werden kann. Durch anschließende Behandlung mit einem Anionenaustauscher  
25 wird die antikomplementäre Aktivität des Immunglobulins noch weiter vermindert. Zur Abtrennung von PEG aus dem gereinigten Immunglobulin wird das erhaltene Immunglobulin entweder durch Äthanol-Fällung in der Kälte ausgefällt oder es wird mit einem Kationenaustauscher behandelt. Der beladene Katio-  
30 nenaustauscher wird danach gründlich gewaschen. Sodann wird das adsorbierte Immunglobulin mit einer Lösung hoher Salzkonzentration, z. B. einer konzentrierten Kochsalzlösung, eluiert. Man erhält ein hochreines Immunglobulin zur intravenösen Gabe mit extrem niedriger antikomplementärer Aktivität.

Die Erfindung betrifft somit den in den Patentansprüchen ge-

- 6 -

3430320

1 kennzeichneten Gegenstand. Vorzugsweise wird als rohes Immunglobulin die Cohn-Fraktion II, d.h. Standard-Immunglobulin, eingesetzt.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird nachstehend noch näher erläutert.

Eine Immunglobulinpaste oder ein lyophilisiertes Immunglobulin-  
Präparat, z. B. die Cohn-Fraktion II,  
wird in einer Kochsalzlösung gelöst, die Aminoessigsäure ent-  
10 hält. Die Proteinkonzentration wird auf einen Wert von 3,0  
bis 5,0 % (Gew./Vol.) und der pH-Wert auf 6,0 bis 7,0 einge-  
stellt. Sodann wird die erhaltene Lösung mit PEG 4000 auf  
eine Konzentration von 6,0 bis 7,0 % (Gew./Vol.) eingestellt.  
Die entstandene Fällung von aggregierten Immunglobulinen  
15 wird abgeschleudert.

Die Konzentrationen an Aminoessigsäure (Glykokoll) und Natrium-  
chlorid betragen vorzugsweise 0,5 bis 2,0 % (Gew./Vol.) bzw.  
0,5 bis 1,5 % (Gew./Vol.). Aminoessigsäure-Konzentratio-  
20 nen außerhalb des angegebenen Bereichs ergeben unbefriedigen-  
de Ergebnisse bei der fraktionierenden Fällung.

Danach wird der pH-Wert des Überstandes auf 7,0 bis 8,0 ein-  
gestellt und PEG 4000 wird bis zu einer Konzentration von  
25 10,0 bis 15,0 % (Gew./Vol.) zugegeben. Die entstandene Fäl-  
lung, die hauptsächlich aus monomerem Immunglobulin besteht,  
wird abgeschleudert.

Die erhaltene Fällung wird in 0,9%iger Kochsalzlösung ge-  
30 löst, die einen Stabilisator für die Gefriertrocknung ent-  
hält, z.B. 2,5 % (Gew./Vol.) Glucose. Die erhaltene Lösung  
wird filtriert, sterilisiert und gefriergetrocknet. Es wird  
ein Immunglobulin-Trockenpräparat erhalten.

35 Das erhaltene Immunglobulin-Präparat hat eine niedrige  
antikomplementäre Aktivität (Komplementaktivität) und kann



3430320

- 7 -

1 intravenös gegeben werden. Das Präparat kann weiter gereinigt  
werden. Zu diesem Zweck wird die Fällung z.B. in einer 0,03  
bis 0,07 molaren Kochsalzlösung oder in einer 0,03 bis 0,06 mo-  
laren Kochsalzlösung gelöst, die 0,01 molar Phosphatpuffer  
5 enthält, und die Proteinkonzentration wird auf 5,0 bis 10,0 %  
(Gew./Vol.) und der pH-Wert auf 7,0 bis 7,5 eingestellt. So-  
dann wird die erhaltene Lösung auf eine mit einem Anionen-  
austauscher gefüllte Säule aufgesetzt. Der Anionenaustauscher  
wurde vorher mit der gleichen Lösung äquilibriert. Als Anio-  
10 nenaustauscher kann z.B. DEAE Sephadex A-50, DEAE Sepharose  
CL-6B, QAE Sephadex A-50, DEA Cellulofine AH oder Spherosil  
DEA verwendet werden. Durch diese Behandlung wird ein Immun-  
globulin-Präparat mit noch niedrigerer Komplementaktivität  
erhalten.

15

In Japan wird die antikomplementäre Aktivität als befriedi-  
gend angesehen, wenn nicht mehr als 20  $\text{CH}_{50}$  Komplement ver-  
braucht werden beim Vermischen der gleichen Mengen einer  
50 mg/ml Lösung von Immunglobulin und einer 100  $\text{CH}_{50}$ /ml Lö-  
20 sung von Komplement und einstündiges Stehen des Gemisches bei  
37°C. Der Mindestwert des biologischen Produkts beträgt nicht  
mehr als 0,4  $\text{CH}_{50}$ /mg Protein. Dementsprechend soll ein Immun-  
globulin-Präparat zur intravenösen Applikation eine anti-  
komplementäre Aktivität von nicht mehr als 0,4  $\text{CH}_{50}$ /mg  
25 Protein aufweisen.

Der PEG-Gehalt des Präparats kann herabgesetzt werden, wenn  
man eine auf die vorstehend beschriebene Weise erhaltene Lö-  
sung von Immunglobulin, d.h. eine durch Auflösen der PEG-Fäl-  
30 lung oder durch Behandlung mit dem Anionenaustauscher erhal-  
tene Lösung bei niedriger Temperatur mit Äthanol auf 25 %  
nach der Methode von Cohn einstellt und die erhaltene Fäl-  
lung abschleudert.

35

Der PEG-Gehalt kann auch dadurch vermindert werden, daß man  
das Immunglobulin in einer 0,03 bis 0,07 molaren Lösung von

- 8 -

3430320

- In den Beispielen wird das erfindungsgemäße Verfahren weiter erläutert.  
PEG bedeutet Polyäthylenglykol 4000.

15 300 g einer durch Fraktionierung mit kaltem Äthanol nach  
Cohn erhaltenen Immunglobulinpaste Fraktion II werden in einer  
0,5%igen Lösung von Aminoessigsäure gelöst, die 0,9 % Na-  
triumchlorid enthält. Der pH-Wert der erhaltenen Lösung  
wird mit 0,5n Salzsäure auf 6,0 eingestellt. Sodann wird  
20 die Lösung auf 1000 ml verdünnt. Die Proteinkonzentration  
beträgt 3,8 % und die antikomplementäre Aktivität 1000 Ein-  
heiten pro mg.

Die erhaltene Lösung wird tropfenweise und unter langsamem  
25 Rühren mit 177 ml einer 40%igen PEG-Lösung versetzt (PEG  
6,0 %). Die entstandene Fällung wird abzentrifugiert. Da-  
nach wird der pH-Wert des Überstandes mit 0,5n Natronlauge  
auf 7,5 eingestellt. Hierauf werden 260 ml einer 40%igen  
PEG-Lösung zugegeben (PEG 12 %) und die entstandene Fällung  
30 wird abzentrifugiert. Die erhaltene Fällung enthält keine  
aggregierten Immunglobuline und zeigt eine antikomplementä-  
re Aktivität von 0,3 Einheiten pro mg nach dem Auflösen in  
einer 2,5%igen Glucoselösung, die 0,9 % Natriumchlorid ent-  
hält. Die erhaltene Lösung wird filtriert, sterilisiert und  
35 gefriergetrocknet. Es wird ein Trockenpräparat erhalten, das  
nach dem Auflösen in einem geeigneten Lösungsmittel intra-

3430320

1 venös appliziert werden kann.

## Beispiel 2

100 g der Immunglobulin-Cohn-Fraktion II als getrocknetes  
5 Pulver werden in einer 1%igen Lösung von Aminoessigsäure ge-  
löst, die 0,9 % Natriumchlorid enthält. Danach wird der pH-  
Wert der erhaltenen Lösung mit 0,5n Salzsäure auf 6,5 einge-  
stellt und die Lösung auf 1000 ml verdünnt. Die Proteinkon-  
zentration beträgt 3,9 % und die antikomplementäre Aktivität  
10 8 Einheiten pro mg.

Hierauf wird die Lösung unter langsamem Rühren mit 194 ml einer 40%igen PEG-Lösung versetzt (PEG 6,5 %). Die entstandene Fällung wird abzentrifugiert. Der pH-Wert des Überstandes wird mit 0,5n Natronlauge auf 7,5 eingestellt. Danach werden 250 ml einer 40%igen PEG-Lösung zugegeben (PEG 13 %), und die erhaltene Fällung wird abzentrifugiert.

Das erhaltene Sediment wird in 200 ml einer 0,5%igen Lösung von Glykokoll gelöst, die 0,5 % Natriumchlorid enthält. Die erhaltene Lösung hat einen pH-Wert von 7,2 und eine anti-komplementäre Aktivität von 0,3 Einheiten pro mg. Sie wird auf eine DEAE-Sephadex A-50 Säule (Durchmesser 5 cm, Länge 15 cm) aufgesetzt, die mit der gleichen Lösung vorher äquilibriert worden war. Nach dem Passieren durch die Säule wird die Lösung auf eine Proteinkonzentration von 5 %, eine Glucosekonzentration von 2,5 % und eine Natriumchlorid-Konzentration von 0,9 % eingestellt. Die antikomplementäre Aktivität beträgt 0,2 Einheiten pro mg. Die Lösung wird filtriert, sterilisiert und gefriergetrocknet. Es wird ein Trockenpräparat erhalten, das nach dem Lösen in einem geeigneten Lösungsmittel intravenös appliziert werden kann.

### Beispiel 3

35 Eine auf die gleiche Weise wie in Beispiel 2 erhaltene Immunglobulin-Lösung wird mit 0,9%iger Natriumchloridlösung

- 10 -

3430320

- 1 auf 600 ml eingestellt und abgekühlt. Sodann werden tropfen-  
weise 530 ml 53,3%iges wäßriges Äthanol nach der Methode von  
Cohn zugegeben (Äthanol-Konzentration 25 %). Die entstandene  
Fällung wird abzentrifugiert. Das Sediment wird in einer  
5 wäßrigen Lösung gelöst. Die Endkonzentration dieser Lösung  
an Glucose beträgt 2,5 %, an Natriumchlorid 0,9 % und an  
Protein 5,0 %. Die erhaltene Lösung hat eine antikomplemen-  
täre Aktivität von 9 Einheiten pro ml.
- 10 Die erhaltene Lösung wird filtriert, sterilisiert und ge-  
friergetrocknet. Es wird ein Trockenpräparat erhalten, das  
nach dem Auflösen in einem geeigneten Lösungsmittel intra-  
venös appliziert werden kann.
- 15 Eine auf die gleiche Weise wie in Beispiel 1 erhaltene Immun-  
globulin-Lösung wird auf die vorstehend beschriebene Weise  
behandelt. Die erhaltene Lösung hat eine antikomplementäre  
Aktivität von 14 Einheiten pro ml.
- 20 **B e i s p i e l 4**
- Eine auf die gleiche Weise wie in Beispiel 2 erhaltene Immun-  
globulin-Lösung wird auf eine Natriumchlorid-Konzentration  
von 0,25 % und eine Glykokoll-Konzentration von 0,25 % einge-  
stellt. Der pH-Wert wird auf 5,5 eingestellt. Sodann wird die  
25 Lösung auf eine mit CM-Sepharose CL-6B gefüllte Säule mit  
einem Durchmesser von 5,0 cm und einer Länge von 15 cm auf-  
gesetzt. Die Säule ist vorher mit der gleichen Lösung äqui-  
libriert worden. Das Immunglobulin wird an der Füllung adsor-  
biert. Anschließend wird die Säule mit der zur Äquilibrierung  
30 verwendeten Lösung gründlich gewaschen. Danach wird das ad-  
sorbierte Immunglobulin mit einer 2,5%igen Lösung von Gluco-  
se mit 0,9 % Natriumchlorid und einem pH-Wert von 7,0 elu-  
iert.
- 35 Das Eluat wird auf eine Proteinkonzentration von 5 % einge-  
stellt. Es zeigt eine antikomplementäre Aktivität von 8 Ein-

3430320

5

10

20

25

30

35